

INSTITUTO FEDERAL DE SANTA CATARINA
CÂMPUS SÃO MIGUEL DO OESTE
TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

JULIANE PENSO
PÂMELA BRUN

ATIVIDADE ANTI-HIPERTENSIVA POR INIBIÇÃO DA ENZIMA CONVERSORA DE
ANGIOTENSINA DE COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES EM VINHOS DO
PLANALTO CATARINENSE

São Miguel do Oeste – SC

2019

JULIANE PENSO
PÂMELA BRUN

ATIVIDADE ANTI-HIPERTENSIVA POR INIBIÇÃO DA ENZIMA CONVERSORA
DE ANGIOTENSINA DE COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES EM VINHOS
DO PLANALTO CATARINENSE

Projeto do Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Tecnologia em Alimentos do Câmpus São Miguel do Oeste do Instituto Federal de Santa Catarina como requisito parcial à obtenção do diploma de Tecnólogo em Alimentos.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Stefany
Grützmann Arcari
Coorientador: Prof.^a Dr.^a Fernanda
Broch Stadler

São Miguel do Oeste SC

2019

ATIVIDADE ANTI-HIPERTENSIVA POR INIBIÇÃO DA ENZIMA CONVERSORA DE
ANGIOTENSINA DE COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES EM VINHOS DO
PLANALTO CATARINENSE

Este trabalho foi julgado adequado como requisito parcial para obtenção do título de
Tecnólogo em Alimentos, pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Santa
Catarina, e aprovado na sua forma final pela comissão avaliadora abaixo indicada.

São Miguel do Oeste, 28 de novembro de 2019

Fernando Sanches de Lima

Professor Doutor do IFSC – São Miguel do Oeste

Keli Cristina Fabiane

Professora Doutora do IFSC – São Miguel do Oeste

Fernanda Broch Stadler

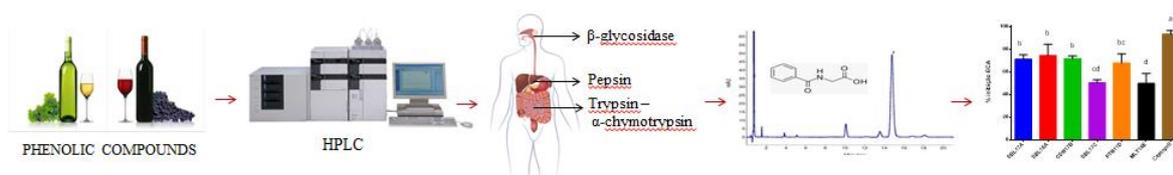
Professora Doutora do IFSC – São Miguel do Oeste

As assinaturas da banca estão devidamente registradas na ata de defesa e arquivadas junto à
Coordenação do Curso.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	7
PARTE EXPERIMENTAL	9
Reagentes	9
Amostras	9
Determinação de compostos fenólicos	10
Digestão gastrointestinal <i>in vitro</i> de compostos fenólicos	10
Determinação da atividade inibitória da enzima conversora de angiotensina	11
Análise estatística	12
RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
Determinação de compostos fenólicos	12
Determinação de compostos fenólicos após a digestão	17
Inibição da enzima conversora de angiotensina (ECA)	20
CONCLUSÃO	22
AGRADECIMENTOS	22
REFERÊNCIAS	24
ANEXO I	29

Graphical Abstract



ANTIHYPERTENSIVE ACTIVITY BY INHIBITING THE ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME OF WINE PHENOLIC COMPOUNDS FROM PLANALTO CATARINENSE: Phenolic compounds of white and red wine, especially epicatechin and quercetin, produced in Planalto Catarinense, have the ability to inhibit the angiotensin-converting enzyme demonstrating antihypertensive activity.

ATIVIDADE ANTI-HIPERTENSIVA POR INIBIÇÃO DA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA DE COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES EM VINHOS DO PLANALTO CATARINENSE

Pâmela Brun^a, Juliane Penso^a, Fernanda Broch Stadler^a, Stefany Grützmann Arcari^{a*}

^aInstituto Federal de Santa Catarina (IFSC), Campus São Miguel do Oeste, 89900-000, São Miguel do Oeste, SC, Brasil.

() Manuscrito com material suplementar

(X) Manuscrito sem material suplementar

*e-mail: stefany.arcari@ifsc.edu.br

ATIVIDADE ANTI-HIPERTENSIVA POR INIBIÇÃO DA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA DE COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES EM VINHOS DO PLANALTO CATARINENSE

Neste estudo avaliou-se a atividade anti-hipertensiva, por inibição da enzima conversora de angiotensina, de vinhos brancos e tintos produzidos na região do Planalto Catarinense, depois do processo de digestão *in vitro*. Foram analisadas amostras de vinhos de *Vitis vinifera* L., das safras 2011, 2014, 2016 e 2017, determinando-se o conteúdo de ácidos fenólicos, flavanóis e flavonóis por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A digestão dos compostos fenólicos foi simulada com o uso das enzimas β -glicosidase, pepsina, tripsina e α -quimiotripsina e, a taxa de digestão foi calculada em percentual, determinando-se os compostos fenólicos depois da digestão. A atividade inibitória da enzima conversora de angiotensina (ECA) foi determinada depois da digestão gastrointestinal *in vitro*, simulando a hidrólise de L-histidil-L-leucina pela ECA para formar ácido hipúrico. As amostras analisadas apresentaram atividade inibitória da ECA relativamente alta (49,93% a 74,61%), comparada a inibição pelo captopril (93,5%), droga comumente utilizada para controle da pressão sanguínea. Correlação positiva significativa foi observada entre a capacidade de inibição da ECA e o conteúdo de epicatequina ($r = 0,51$) e quercetina ($r = 0,54$) digeridos no processo de digestão gastrointestinal *in vitro*.

Palavras chave: *Vitis vinifera* L.; polifenóis; digestão gastrointestinal *in vitro*; hipertensão, ácido hipúrico

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, novas regiões vitivinícolas têm despontado e se mostrado favoráveis ao cultivo de variedades de *Vitis vinifera* L., ainda que aproximadamente 90% dos vinhos brasileiros sejam provenientes da Serra Gaúcha, no Sul do Brasil. Nesse contexto, a vitivinicultura em regiões brasileiras de altitude tem se destacado, com alguns estudos enumerando as potencialidades destas regiões para a produção de vinhos de qualidade^{1,2-4}. A região do Planalto Catarinense caracteriza-se pela elevada altitude, variável de 900 a 1.400 metros acima do nível do mar e, tem se destacado pela produção de vinhos com elevado conteúdo de compostos fenólicos e significativa atividade antioxidante avaliada *in vivo* e *in vitro*²⁻⁴.

O vinho, uma bebida resultante do processo de fermentação das uvas, é rico em flavonoides como flavonóis, flavonas, proantocianidinas, antocianinas e catequinas e, não flavonoides, tais como derivados do ácido hidroxícinnâmico e do ácido benzoico, ácidos hidrolisáveis e estilbenos^{5,6,7}. Muitos estudos têm demonstrado uma associação entre o consumo desses compostos fenólicos e a redução na ocorrência de doenças cardiovasculares,^{8,9,10} assim como, estudos epidemiológicos mostraram uma associação inversa entre o consumo de compostos fenólicos e o risco de hipertensão^{8,11,12}.

A hipertensão arterial é um dos principais fatores de risco para a morbidade e mortalidade, visto que está associada ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, incluindo doenças coronárias, acidente vascular cerebral, doença arterial periférica, doenças renais e insuficiência cardíaca¹³. Esforços para reduzir a prevalência da hipertensão tem se concentrado em abordagens não farmacológicas, como atitudes relacionadas ao estilo de vida da população. As medidas de estilo de vida amplamente aceitas para diminuir os riscos associados à hipertensão arterial incluem a cessação do tabagismo, redução de peso, exercício físico, redução da ingestão excessiva de álcool, dietas com redução do sódio, aumento de potássio, diminuição da ingestão de gorduras e aumento no consumo de frutas e vegetais¹⁴.

Alguns componentes específicos presentes nas frutas, vegetais e cereais são conhecidos por reduzir a pressão sanguínea, a exemplo de peptídeos e antioxidantes como os compostos fenólicos, que tem recebido considerável atenção nos últimos anos. Esses compostos fenólicos implicam no desencadeamento de certas respostas fisiológicas no organismo humano, a exemplo do efeito inibitório da enzima conversora de angiotensina I (ECA)^{15,16}. A ECA tem um importante efeito fisiológico na regulação da pressão arterial

pela conversão da angiotensina I a angiotensina II, um potente vasoconstritor e, na degradação do vasodilatador bradicinina^{17,18}.

A atividade inibitória da ECA faz dos compostos fenólicos uma alternativa promissora quando há a opção de escolha entre o uso de drogas sintéticas e componentes alimentares de origem natural¹⁹. Estudos indicam que o consumo de produtos ricos em polifenóis das uvas e vinhos é capaz de reduzir a pressão arterial, uma vez que melhora a resistência das artérias e diminui o tônus vascular da artéria periférica^{20,21,22}.

Tendo em vista que alguns estudos demonstram que os vinhos do Planalto Catarinense apresentam elevado conteúdo de compostos fenólicos²⁻⁴, o presente trabalho teve como objetivo avaliar se os vinhos dessa região possuem a capacidade de inibir a enzima conversora de angiotensina (ECA). A atividade anti-hipertensiva dos vinhos foi avaliada depois de digestão *in vitro* a fim de considerar também a atividade dos compostos resultantes do processo de digestão da bebida.

PARTE EXPERIMENTAL

Reagentes

Os reagentes e as enzimas utilizados para a digestão dos compostos fenólicos foram a acetonitrila de grau cromatográfico e os padrões cromatográficos foram obtidos da Sigma-Aldrich (San-Luis, MO, EUA), ácido clorídrico (HCl) 5 mol L⁻¹ e hidróxido de sódio (NaOH) 2 mol L⁻¹; β-glicosidase (pH 7,0), para simular a digestão da boca; pepsina (pH 2,0) para simular a digestão do estômago; e a tripsina e α-quimiotripsina (pH 8,0) para simular a digestão no intestino, respectivamente.

Os reagentes utilizados para a determinação da atividade inibitória da enzima conversora de angiotensina foram o ácido bórico (H₃BO₃) 0,1 mol L⁻¹, hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 mol L⁻¹, cloreto de sódio (NaCl) 0,3 mol L⁻¹, ácido clorídrico (HCl) com grau analítico 37% v/v, enzima ECA de intestino de coelho (Sigma-Aldrich EC 3.4.15.1), Hipuril-L-histidil-L-leucina (HHL) de grau analítico 98% pureza (Sigma-Aldrich H1635) e metanol de grau cromatográfico para analisar o pico de ácido hipúrico.

Amostras

Seis amostras de vinhos brancos e tintos de *Vitis vinífera L.*, das safras 2011, 2014, 2016 e 2017 foram coletadas em vinícolas do Planalto Catarinense (Tabela 1). Os vinhos foram armazenados em temperatura ambiente no laboratório de Análise Instrumental do Instituto Federal de Santa Catarina campus São Miguel do Oeste até o momento das análises.

Tabela 1. Descrição e codificação das amostras de vinhos de *Vitis vinífera L.* do Planalto Catarinense

Código	Variedade	Safra	Produtor	Localização geográfica
SBL16A	Sauvignon Blanc	2016	A	28°16'47.7"S 49°55'23.5"W
SBL17A	Sauvignon Blanc	2017	A	28°16'47.7"S 49°55'23.5"W
CDN17B	Chardonnay	2017	B	28°14'44.8"S 49°57'40.5"W
SBL17C	Sauvignon Blanc	2017	C	28°14'31.7"S 49°58'23.4"W
PTN11D	Pinot Noir	2011	D	28°13'07.6"S 50°06'42.4"W
MLT14E	Merlot	2014	E	28°18'30.5"S 49°55'26.9"W

Determinação de compostos fenólicos

Foram identificados e quantificados 12 compostos fenólicos, entre eles, ácido *p*-cumárico, tirosol, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido vanílico, ácido gálico, catequina, epicatequina, ácido cafeico, ácido siríngico, *trans*-resveratrol, quercetina e ácido ferúlico através de cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD). Foi utilizado um cromatógrafo líquido Agilent Technologies (St. Clara, CA, EUA) equipado com um sistema quaternário de bombas (modelo G1311C), pré-coluna (4,6 mm x 50 mm x 5 µm de tamanho de partícula) e coluna (4,6 mm x 250 mm x 5 µm de tamanho de partícula) em fase reversa C₁₈ da Phenomenex (Torrance, CA, USA), um detector de arranjo de diodos (modelo G1316A) e um amostrador automático (modelo G7167A). O sistema era controlado pelo software Agilent Lab Advisor.

Para identificação e quantificação dos compostos fenólicos foi utilizada metodologia de Burin et al²³. A fase móvel A foi composta por H₂O:CH₃COOH (98:2 v/v) e a fase móvel B foi composta de H₂O:CH₃COOH:CH₃CN (58:2:40 v/v/v). O gradiente de eluição foi: 0 a 80% de solvente B durante 55 min, 80 a 100% de B durante 15 min, retornando a 0% de solvente B até 80 minutos. A vazão foi de 0,9 mL/min e a detecção foi realizada a 280 nm para flavanóis e tirosol, 320 nm para ácidos cinâmicos, 306 nm para *trans*-resveratrol e 360 nm para flavonóis. As amostras foram filtradas (0,22 µm de poro) e injetadas (10 µL) diretamente no sistema de cromatografia.

A identificação dos compostos fenólicos foi realizada por comparação do tempo de retenção das amostras com os padrões analíticos e a quantificação foi realizada por padronização externa, com a elaboração de curvas analíticas com seis pontos equidistantes e três repetições para cada ponto.

Digestão gastrointestinal *in vitro* de compostos fenólicos

A digestão gastrointestinal *in vitro* foi realizada utilizando metodologia adaptada de Fernández e Labra²⁴. As análises foram realizadas em triplicatas. Foi adicionado 1 (um) grama de amostra de vinho com 10 mL de água destilada e 0,058 g de NaCl em um erlenmeyer e mantidos em banho maria durante a noite (das 17 horas às 9 horas) em temperatura ambiente. Às 9 horas do dia seguinte foi realizado uma digestão inicial com β-glicosidase em pH 7,0 por 2 horas a 37 °C para simular as condições na boca, seguida de pepsina e HCl (pH = 2,0) em pH 2,0 por 2 horas a 37 °C para simular as condições gástricas,

finalizando com tripsina e quimiotripsina em pH = 8,0 por 2 horas a 37 °C para simular as condições do intestino delgado, todas com agitação de 100 rpm. A duração de 2 horas representa a duração média do trânsito gastrointestinal.

Depois da simulação da digestão as amostras foram submetidas à temperatura de congelamento (-18 °C) por 20 minutos para inibição da atividade enzimática e, permaneceram armazenadas a temperatura de - 18 °C até o momento das análises. A porcentagem de taxa de digestão foi calculada pela equação:

$$\% = \frac{[] \text{ final fenólicos}}{[] \text{ inicial fenólicos}} * 100$$

Determinação da atividade inibitória da enzima conversora de angiotensina

A atividade inibitória da enzima conversora de angiotensina (ECA) foi determinada depois da digestão gastrointestinal *in vitro*, com o objetivo de avaliar a atividade anti-hipertensiva da amostra integra e digerida, empregando metodologia de Eriz et al²⁵ que simula a hidrólise de L-histidil-L-leucina pela ECA para formar ácido hipúrico, que por sua vez é quantificado por cromatografia líquida de alta eficiência. Os resultados foram expressos como % de inibição da atividade da ECA.

Nessa determinação, o peptídeo sintético hipuril-L-histidil-L-leucina (HHL) simula a reação com ECA e forma o peptídeo hipúrico, L-histidil-L-leucina (AH) que por sua vez, é quantificado por CLAE. A análise foi realizada em tubos cônicos com capacidade de 2 mL, adicionando-se 50 µL de amostra, 200 µL de solução enzimática e incubando-se a 25 °C por 10 minutos. Foram adicionados 100 µL de HHL e incubado a 37 °C por 1 hora, com posterior adição de 150 µL de HCl 0,5 mol L⁻¹ e armazenamento em freezer (-18 °C) até o momento da análise cromatográfica. O ácido hipúrico foi detectado e quantificado por CLAE, com amostra descongelada e centrifugada por 10 minutos a 4000 rpm. O sobrenadante foi recolhido e filtrado em filtros de 0,22 µm. Os solventes para determinação cromatográfica do ácido hipúrico foram água ultra-pura com ácido fosfórico 10 mol L⁻¹ (pH 2,5) (A) e metanol puro (B). Utilizou-se coluna analítica C₁₈ de 250 mm x 4,6 mm x 5 µm. A vazão foi de 1 mL min⁻¹ a temperatura ambiente (25 ± 1 °C). A quantificação foi realizada com a curva analítica do padrão de ácido hipúrico (AH).

A porcentagem de inibição da atividade da enzima conversora de angiotensina foi calculada pela equação:

$$\% = 100 - \frac{[AH \text{ amostra}]}{[AH \text{ controle}]} * 100$$

Análise estatística

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. Para verificação de diferenças significativas entre as amostras estudadas foi aplicada Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey ($p < 0,05$). Teste de correlação simples foi utilizado para avaliar a relação entre a concentração de compostos fenólicos e atividade inibitória da ECA nas amostras de vinho. Todos os testes estatísticos foram realizados no software *Statistica* versão 10 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação de compostos fenólicos

Do ponto de vista químico os compostos fenólicos são caracterizados por apresentar um núcleo benzênico, agrupado a um ou vários grupos hidroxilas. Entre as frutas a uva é uma das maiores fontes de compostos fenólicos e também estão presentes em produtos derivados da uva, como sucos e vinhos, tanto no vinho tinto quanto no branco^{26,27,28,29}. Os compostos identificados e quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) encontram-se na figura 1.

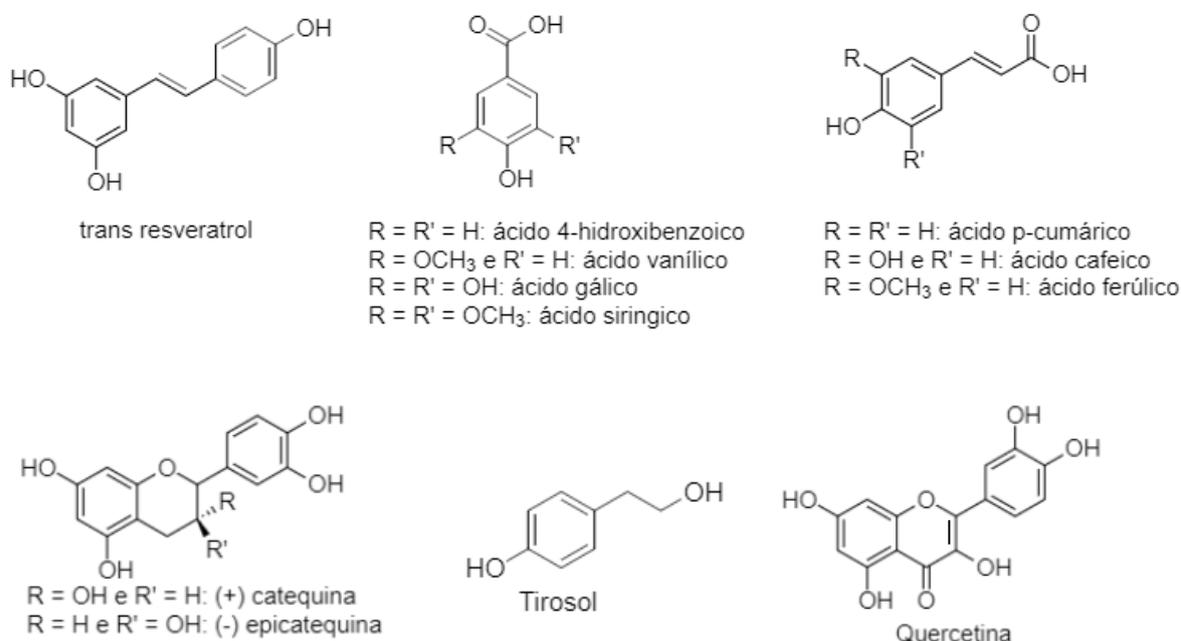


Figura 1. Fórmulas estruturais dos compostos fenólicos analisados

A concentração de compostos fenólicos das amostras estudadas é apresentada na tabela 2. Com relação ao composto catequina (Tabela 2), a amostra SBL17A (vinho branco) apresentou maior concentração (24,71 mg L⁻¹) deste flavanol, seguida das amostras MLT14E e PTN11D, ambos vinhos tintos. Concentração semelhante (25,03 mg L⁻¹) foi encontrada por Gris³⁰ em vinhos da uva Merlot, safra 2006. A catequina é um flavanol extraído da casca e das sementes da uva durante o processo de vinificação e sofre transformações estruturais através de reações de oxidação e condensação durante o envelhecimento do vinho³¹.

Pode-se observar na tabela 2, que a concentração de quercetina foi maior na amostra MLT14E (15,50 mg L⁻¹), seguido das amostras SBL17C (2,67 mg L⁻¹) e PTN11D (2,07 mg L⁻¹). Valor superior de concentração (19,01 mg L⁻¹) foi encontrada por Gris et al⁴ para vinho da uva Merlot safra 2006, já em Souza³² a concentração de quercetina variou de 2,4 mg.L⁻¹ a 3,0 mg.L⁻¹ no estudo dos fenólicos em vinhos do vale do São Francisco em Pernambuco. Daudt et al³³ e Motta³⁴ afirmam que a localização do vinhedo tem grande influência sobre a concentração deste flavonol. A quercetina é o flavonol majoritário nas uvas tintas e brancas e o seu conteúdo é dependente da exposição das uvas ao sol, da fertilização nitrogenada e do estado hídrico do vinhedo³⁵.

Na tabela 2 pode ser observado que as amostras MLT14E e PTN11D ambos vinhos tintos, apresentam maior concentração de ácido p-cumárico, tirosol, ácido vanílico, ácido gálico, epicatequina e trans-resveratrol do que as amostras SBL17A, SBL17C, SBL16A e CDN17B (vinhos brancos).

Neste estudo foram observadas concentrações inferiores aos valores encontrados por Gris³⁰ para catequina (25 mg L⁻¹ a 34 mg L⁻¹). Para epicatequina os valores observados por Gris³⁰ foram inferiores ao desse estudo (10 mg L⁻¹ a 16 mg L⁻¹). Pode-se observar que o conteúdo da epicatequina obtido na amostra MLT14E (60,73 mg L⁻¹) foi semelhante ao encontrado por Cadahía³⁶ em vinhos Merlot espanhóis. Já em Arcari³⁷ concentração superior (89,29 mg L⁻¹) deste composto foi encontrado na amostra Merlot da safra de 2013 em vinhos catarinenses.

O *trans*-resveratrol apresentou concentrações abaixo de 0,60 mg L⁻¹ em todas as amostras, sendo comumente encontrado de 2 mg L⁻¹ a 12,5 mg L⁻¹ em vinhos tintos brasileiros³⁸. Segundo Arcari³⁷, concentrações semelhantes foram encontradas nas safras de 2012, 2013 e 2014 nos municípios de Água Doce, Campos Novos e Tangará, com exceção da safra de 2012 de Campos Novos que apresentou concentração superior (2,17 mg L⁻¹). Segundo Souza³² a concentração de resveratrol encontrado nos vinhos do vale do São Francisco em Pernambuco foi de 1,5 mg L⁻¹ a 5,9 mg L⁻¹.

Na vinificação, a maceração com cascas e sementes durante a fermentação é o fator responsável pelos altos níveis de *trans*-resveratrol em vinhos tintos, quando comparados a vinhos brancos, conforme foi verificado neste estudo. Dependente da variedade da uva e das condições enológicas, a concentração de *trans*-resveratrol aumenta durante a fermentação em presença da casca, sendo a extração da substância facilitada pelo álcool etílico produzido durante o processo³⁹. As diferenças de concentração entre safras e regiões podem ser atribuídas a variações na proporção de resveratrol na forma livre e glicosilada, logo que as formas glicosiladas podem ser quebradas por meio de reações hidrolíticas³⁷. O resveratrol é um polifenol produzido pela parreira quando os agentes patogênicos atacam a planta, sendo assim, é utilizado para a defesa da planta³⁸.

O ácido cafeico apresentou baixa concentração em cinco das seis amostras analisadas, com exceção da amostra MLT14E que apresentou concentração de 2,95 mg L⁻¹, já em Arcari³⁷ resultados superiores foram encontradas na maioria das amostras analisadas com concentrações de 4,15 mg L⁻¹ até 16,27 mg L⁻¹. O ácido cafeico é um composto orgânico que possui grupos funcionais fenólicos e acrílicos. Está presente em plantas, café, óleo de argã, vinho, sendo este o ácido hidroxicinâmico principal⁴⁰.

O ácido siríngico apresentou concentração baixa em quatro das seis amostras analisadas, sendo que a maior concentração está presente na amostra SBL16A (3,76 mg L⁻¹), seguida da amostra MLT14E (1,31 mg L⁻¹). Em Arcari³⁷ o conteúdo deste composto variou de < 0,03 mg L⁻¹ a 4,74 mg L⁻¹. O ácido siríngico possui dois grupamentos metoxila em sua cadeia⁴¹, e supõe-se que conforme a figura 3, isto pode dificultar a digestão deste composto no organismo.

O ácido ferúlico apresentou baixa concentração em todas as amostras, sendo que a menor concentração foi encontrada nas amostras SBL16A (0,11 mg L⁻¹) e SBL17A (0,37 mg L⁻¹). Em um estudo realizado por Lima⁴² foram encontradas concentrações semelhantes (0,20 mg L⁻¹ a 0,34 mg L⁻¹) em amostras de vinhos Goethe produzidos em Santa Catarina da safra de 2010. Este composto está presente em muitas plantas e serve como mecanismo de autopreservação, já que reforça a resistência da parede celular e a protege de danos causados por microrganismo e pela radiação do solar⁴³.

O ácido 4-hidroxibenzoico apresentou diferentes concentrações nas amostras analisadas. Sua maior concentração foi encontrada na amostra SBL17C (31,92 mg L⁻¹), seguida da amostra PNT11D (10,85 mg L⁻¹) e MLT14E (6,71 mg L⁻¹). Segundo Arcari³⁷ a região de cultivo e a safra influenciam na concentração deste composto.

O ácido gálico é originado a partir da hidrólise de ésteres após alguns meses de maturação do vinho; é estável durante o envelhecimento e, a quantidade média em vinho branco é de 10 mg L^{-1} ⁴⁴. Neste estudo foram encontradas concentrações de $5,34 \text{ mg L}^{-1}$, $5,07 \text{ mg L}^{-1}$, $3,29 \text{ mg L}^{-1}$, $2,42 \text{ mg L}^{-1}$, $1,74 \text{ mg L}^{-1}$ e $1,48 \text{ mg L}^{-1}$ nas amostras MLT14E, PNT11D, SBL17C, CND17B, SBL17A e SBL16A respectivamente. Em Lima⁴² foram encontradas baixas concentrações ($0,80 \text{ mg L}^{-1}$ a $2,00 \text{ mg L}^{-1}$) em relação a este estudo.

O ácido vanílico apresentou maior concentração na amostra MLT14E ($4,42 \text{ mg L}^{-1}$) seguida da amostra PNT11D ($2,37 \text{ mg L}^{-1}$), ambos vinhos tintos. Em Silva⁴⁵ foram encontradas diferentes concentrações deste composto em vinho tinto do tipo Syrah da safra 2012, nas concentrações de $3,10 \text{ mg L}^{-1}$, $5,20 \text{ mg L}^{-1}$, $5,48 \text{ mg L}^{-1}$, $5,73 \text{ mg L}^{-1}$ e $5,89 \text{ mg L}^{-1}$ dos locais Austrália, Vale do Rio São Francisco, Rio Grande do Sul, Chile e África, respectivamente. Todos os valores reportados são superiores aos encontrados neste estudo.

O tirosol apresentou baixas concentrações em cinco das seis amostras analisadas, com exceção da amostra MLT14E ($10,60 \text{ mg L}^{-1}$), seguida da amostra PNT11D ($3,55 \text{ mg L}^{-1}$), e das amostras SBL17C, SBL17A, SBL16A e CND17B, nas concentrações de $1,07 \text{ mg L}^{-1}$, $0,60 \text{ mg L}^{-1}$, $0,35 \text{ mg L}^{-1}$ e $0,15 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. Já em Lima⁴², as concentrações obtidas foram de $1,08 \text{ mg L}^{-1}$ a $2,43 \text{ mg L}^{-1}$.

Tanto os ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados, e os flavonóis possuem diferente comportamento ao longo do envelhecimento, dessa maneira é difícil estabelecer uma relação direta entre as diferenças no conteúdo total desses compostos ao longo do tempo^{46,42}.

Tabela 2. Concentração de compostos fenólicos de amostras de vinhos do Planalto Catarinense.

Composto (mg L⁻¹)	SBL17A	SBL17C	SBL16A	CND17B	MLT14E	PNT11D
Ácido <i>p</i> -cumárico (mg L ⁻¹)	0,03 ± 0,001 ^e	0,25 ± 0,001 ^{de}	0,62 ± 0,006 ^d	1,14 ± 0,02 ^c	1,99 ± 0,29 ^b	9,61 ± 0,18 ^a
Tirosol (mg L ⁻¹)	0,60 ± 0,02 ^d	1,07 ± 0,02 ^c	0,35 ± 0,04 ^{de}	0,15 ± 0,02 ^e	10,60 ± 0,11 ^a	3,55 ± 0,30 ^b
Ácido 4-hidroxibenzoico (mg L ⁻¹)	0,61 ± 0,07 ^{de}	31,92 ± 0,26 ^a	0,76 ± 0,001 ^d	0,09 ± 0,009 ^e	6,71 ± 0,44 ^c	10,85 ± 0,12 ^b
Ácido vanílico (mg L ⁻¹)	1,23 ± 0,11 ^d	1,61 ± 0,07 ^d	1,11 ± 0,01 ^d	0,37 ± 0,08 ^d	4,42 ± 0,43 ^a	2,37 ± 0,05 ^b
Ácido gálico (mg L ⁻¹)	1,74 ± 0,12 ^d	3,29 ± 0,29 ^b	1,48 ± 0,04 ^d	2,42 ± 0,34 ^c	5,34 ± 0,20 ^a	5,07 ± 0,13 ^a
Catequina (mg L ⁻¹)	24,71 ± 0,31 ^a	0,42 ± 0,05 ^d	12,07 ± 0,12 ^b	1,49 ± 0,06 ^d	16,75 ± 1,65 ^b	16,71 ± 0,97 ^b
Epicatequina (mg L ⁻¹)	6,75 ± 0,37 ^c	0,52 ± 0,02 ^d	6,05 ± 0,04 ^c	0,52 ± 0,19 ^d	60,73 ± 1,29 ^a	15,91 ± 1,36 ^b
Ácido cafeico (mg L ⁻¹)	0,28 ± 0,06 ^d	0,46 ± 0,12 ^c	0,88 ± 0,03 ^b	0,31 ± 0,05 ^{cd}	2,95 ± 0,05 ^a	0,74 ± 0,01 ^b
Ácido sirínico (mg L ⁻¹)	0,56 ± 0,06 ^{cd}	0,46 ± 0,04 ^d	3,76 ± 0,03 ^a	0,55 ± 0,11 ^{cd}	1,31 ± 0,05 ^b	0,74 ± 0,13 ^c
<i>Trans</i> -resveratrol (mg L ⁻¹)	0,22 ± 0,006 ^{cd}	0,24 ± 0,01 ^c	0,16 ± 0,001 ^e	0,21 ± 0,02 ^d	0,60 ± 0,006 ^a	0,51 ± 0,006 ^b
Quercetina (mg L ⁻¹)	1,42 ± 0,01 ^c	2,67 ± 0,01 ^b	0,86 ± 0,01 ^{cd}	0,80 ± 0,02 ^d	15,50 ± 0,54 ^a	2,07 ± 0,08 ^b
Ácido ferúlico (mg L ⁻¹)	0,37 ± 0,0007 ^a	0,21 ± 0,01 ^{cd}	0,11 ± 0,02 ^e	0,17 ± 0,01 ^{de}	0,29 ± 0,07 ^{ab}	0,27 ± 0,006 ^{bc}

^a Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Determinação de compostos fenólicos após a digestão

Existem três hidroxicinamatos comuns em uvas e vinhos brancos: ácidos cutárico, caftárico e fertárico, esses ésteres são derivados de ácidos *p*-cumárico, cafeico e ferrúlico respectivamente^{46,48}.

Nos mostos e vinhos, devido à ocorrência de reações enzimáticas hidrolíticas, são encontradas nas formas livres dos ácidos cinâmicos, com destaque para os ácidos cafeico, ferúlico e *p*-cumárico^{35,37}. A Figura 2 apresenta a porcentagem de ácidos hidroxicinâmicos depois da digestão *in vitro*.

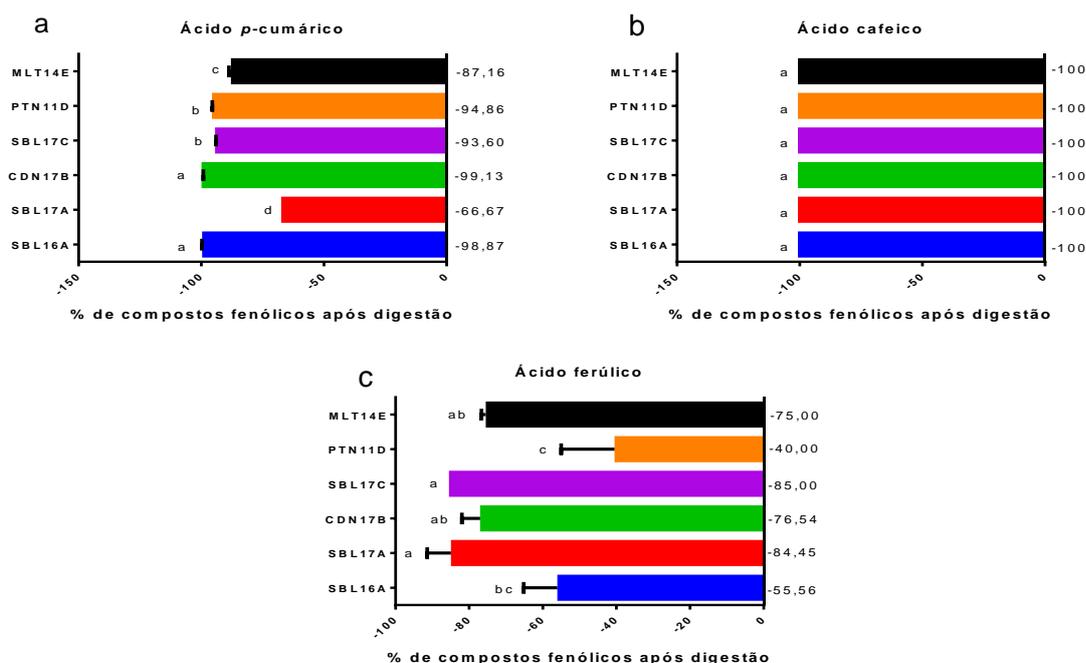


Figura 2. Diferença percentual (%) de concentração de ácidos hidroxicinâmicos depois da digestão *in vitro*

O ácido cafeico apresentou 100 % de digestão em todas as amostras, diferente do ácido *p*-cumárico que apresentou de 66,67 % a 99,13 % de digestão. A amostra CDN17B (vinho branco), foi à amostra que maior apresentou digestão do ácido (99,13 %). Já a amostra SBL17A foi a menos digerida (66,67 %). Supõe-se que o ácido cafeico, além de realizar reações de hidrólise, participa de outras reações como as de oxidação. Este composto reage com as antocianinas que constituem em uma das mais importantes classes de compostos fenólicos, cujos pigmentos são responsáveis pela cor das uvas e dos vinhos tintos^{49,45}. O ácido ferúlico apresentou grande variação de digestão de 40 % a 85 %, em que a menor porcentagem foi encontrada na amostra de vinho tinto PNT11D e a maior porcentagem na

amostra de vinho branco SBL17C, respectivamente, o que pode ser atribuído à hidrólise das formas esterificadas (LIMA, 2012) deste composto. O ácido ferúlico é bem absorvido na parte proximal do intestino^{50,51} e nos alimentos encontra-se principalmente na forma esterificada⁵².

Os compostos hidroxibenzoicos (Figura 3) estão presentes nas uvas na forma de ésteres e durante a elaboração e conservação do vinho são lentamente hidrolisados, de modo que, no vinho são encontradas as formas livres e combinadas destes compostos³⁵ e, podem apresentar diferentes comportamentos durante o envelhecimento dependendo da variedade com a qual o vinho é elaborado. Esses compostos podem participar de diferentes reações como esterificação, condensação e hidrólise, levando a uma variação na sua concentração durante o armazenamento⁵³. O ácido 4-hidroxibenzoico apresentou uma elevada taxa de digestão, de 90,23 % a 100 %, diferente do ácido vanílico e do ácido sirínico que variaram de 44,87 % na amostra CDN17B a 99,06 % na amostra SBL17A e 13,33 % na amostra SBL17C a 89,73 % na amostra SBL16A, respectivamente.

O ácido gálico é o hidroxibenzoico mais abundante em vinhos tintos³⁷, dessa forma, o composto apresenta uma elevada taxa de digestão, principalmente, nas amostras MLT14E e PTN11D (vinhos tintos) onde a porcentagem de digestão foi de 100 %. As amostras CDN17B, SBL17A e SBL16A (vinhos brancos) obtiveram digestão de 94,86 % a 99,69 % e apenas uma amostra de vinho branco (SBL17C) obteve 100 % de digestão.

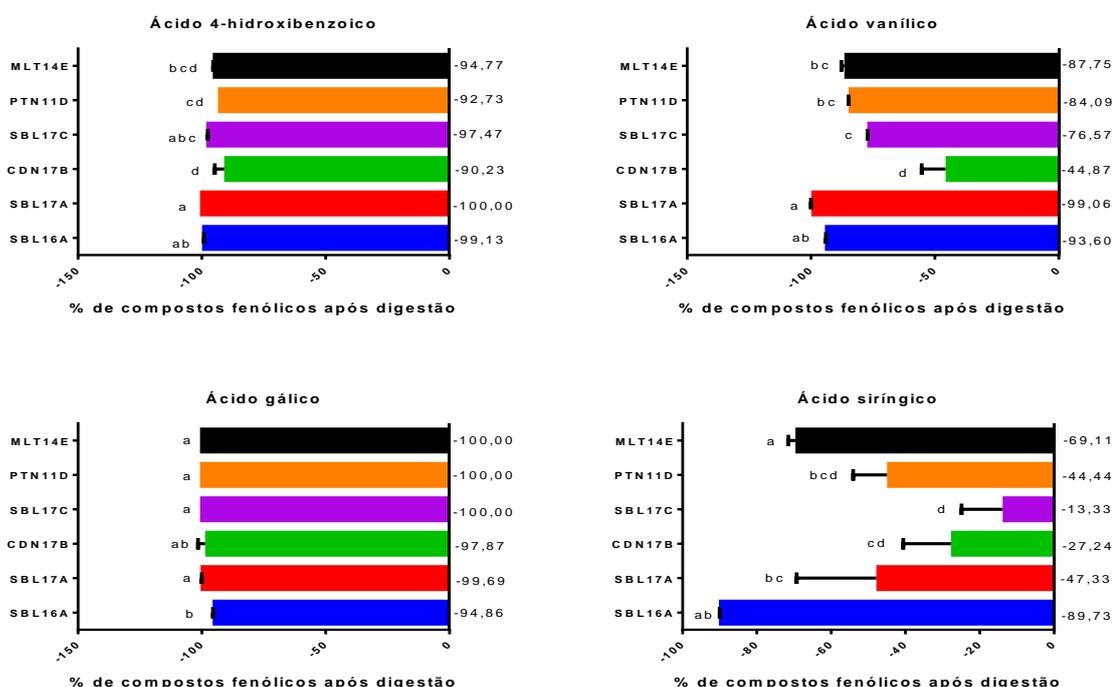


Figura 3. Diferença percentual (%) de concentração de ácidos hidroxibenzoicos depois da digestão *in vitro*

Todos os compostos foram digeridos no processo de digestão *in vitro*, com exceção da amostra SBL17C (vinho branco) no composto epicatequina (Figura 4). A epicatequina é um dos flavonóis predominantes em vinhos brancos e, está presente nas cascas e sementes das uvas⁵³. Das seis amostras analisadas apenas a amostra SBL17C – vinho branco sofreu degradação, e supõe-se que ocorreu a quebra na ligação da epicatequina com o açúcar ao qual ela está ligada, ou a quebra da ligação entre duas epicatequinas, aumentando sua concentração.

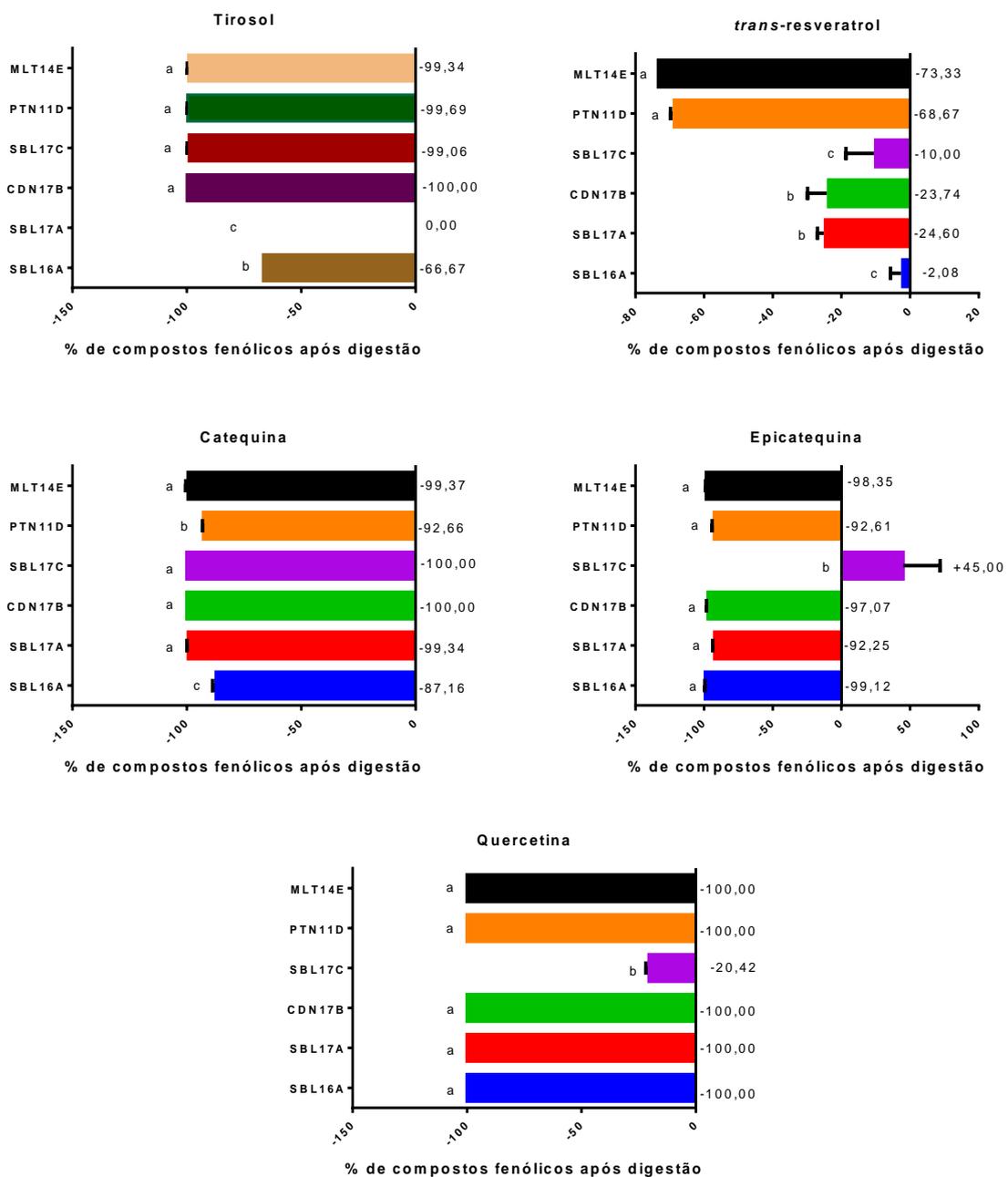


Figura 4. Diferença percentual (%) de concentração de flavanóis, flavonóis e estilbenos depois da digestão in vitro

A catequina é um dos compostos fenólicos majoritários do vinho branco, pois está presente em maior quantidade no extrato da casca da uva branca⁵⁴. Quatro das seis amostras tiveram a catequina 100% digerida, as outras amostras ficaram entre 92,66 % e 87,16 %.

A quercetina foi 100 % digerida em cinco das seis amostras. A amostra SBL17C (vinho branco) foi à amostra que obteve porcentagem mais baixa de digestão (20,43 %). A quercetina é o flavonol mais encontrado em mostos e vinhos brancos e possui uma maior capacidade antioxidante em comparação com a catequina, devido à dupla ligação entre os carbonos 1 e 3 da função cetona da quercetina^{53,54}.

O *trans*-resveratrol é o estilbeno predominantemente encontrado em vinhos, especialmente tintos³⁷ e, diferente dos outros compostos, foi digerido em grande proporção nos vinhos tintos (73,33 % a 68,67 %) e em baixa proporção nos vinhos brancos (2,08 % a 24,60 %).

No que se refere ao tirosol, sua concentração é especialmente dependente da cepa de levedura utilizada durante a fermentação alcoólica e da capacidade de conversão de tirosina em tirosol. Desta forma, a concentração de tirosol em vinhos pode apresentar grande variação dependendo da variedade de uva utilizada⁵³. O tirosol em duas amostras de vinhos tintos e em duas de vinhos brancos obteve uma digestão de 100%. Na amostra SBL17A (vinho branco) não houve digestão e na amostra SBL16A (vinho branco) houve digestão de 66,67%.

Em geral, os compostos analisados obtiveram uma elevada taxa de digestão, uma vez que o vinho apresenta etanol em sua composição. Se observarmos a estrutura molecular do etanol ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$) ele é uma molécula polar que se dissolve facilmente em água⁵⁵. Comparando as figuras 1, 2, 3 e 4 observa-se que os compostos que contém mais hidroxilas (OH) em sua cadeia, obtiveram uma melhor digestão dos que apresentaram um grupo metil (CH_3).

Supõe-se que os compostos fenólicos solubilizam-se melhor em meio alcóolico, ficando mais biodisponíveis, tornando-se de fácil absorção no organismo. Serafínni et al⁵⁶ afirmam que o etanol pode reduzir as interações químicas entre proteínas e compostos fenólicos e assim contribuir, indiretamente, para elevar a capacidade antioxidante do vinho.

Inibição da enzima conversora de angiotensina (ECA)

Há muita discussão sobre o consumo moderado de vinho e a inibição da incidência de doenças cardiovasculares. A ingestão moderada de vinho também é capaz de inibir a incidência de certos tipos de câncer e doenças inflamatórias^{57,58,59}. As propriedades antioxidantes dos compostos fenólicos instigaram muitos estudiosos a avaliar a influência desses compostos na prevenção de doenças, como certos tipos de câncer, doenças cardiovasculares, diabetes, acidentes vasculares cerebrais e outras doenças relacionadas ao envelhecimento⁶⁰.

Pode-se observar na figura 5 que os maiores percentuais de inibição da enzima conversora de angiotensina estão presentes nas amostras de vinho branco.

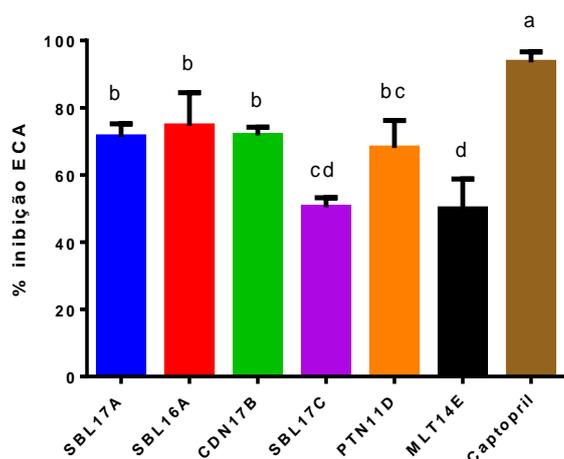


Figura 5. Diferença percentual (%) de inibição da ECA depois da digestão *in vitro*

A amostra SBL16A obteve maior percentual (74,61%) de inibição da enzima, conforme a tabela 2 deste estudo que apresentou concentração de 6,05 mg L⁻¹ de epicatequina e 0,86 mg L⁻¹ de quercetina, seguida da amostra SBL17A apresentando concentrações de 6,75 mg L⁻¹ de epicatequina e 1,42 mg L⁻¹ de quercetina. Destaca-se que concentrações parecidas dos fenólicos obtiveram uma maior inibição da enzima, e as amostras que apresentaram maior concentração de epicatequina seguida de quercetina tiveram as maiores porcentagens de inibição.

A amostra CND17B obteve concentrações baixíssimas de epicatequina (0,52 mg L⁻¹) e quercetina (0,80 mg L⁻¹) e da mesma forma obteve alta taxa de inibição. A amostra MLT14E (vinho tinto) apresentou o mais baixo percentual (49,93%) de inibição, uma vez

que, mostrado na tabela 2 deste estudo, foi a amostra que obteve maior concentração de epicatequina ($60,73 \text{ mg L}^{-1}$) e quercetina ($15,50 \text{ mg L}^{-1}$).

Verificou-se que a amostra SBL17C também apresentou baixa inibição, com concentração de $0,52 \text{ mg L}^{-1}$ de epicatequina e $2,67 \text{ mg L}^{-1}$ de quercetina. Com isso, constata-se que em altas concentrações de epicatequina e quercetina, e em baixas concentrações de epicatequina em relação à quercetina, o vinho digerido não foi capaz de inibir a enzima conversora de angiotensina.

O captopril apresentou o maior percentual (93,5%) de inibição da enzima conversora de angiotensina, droga comumente usada por pacientes hipertensos, para reduzir a pressão arterial, além de catalisar a conversão de angiotensina I para angiotensina II⁶¹.

Ao aplicar o teste de correlação de Pearson, verificou-se correlação positiva significativa entre a capacidade de inibição da ECA e o conteúdo de epicatequina ($r = 0,51$) e quercetina ($r = 0,54$) digeridos no processo de digestão gastrointestinal *in vitro*. Isso significa que, quanto maior o conteúdo de epicatequina e quercetina presentes nos vinhos e digeríveis, maior a capacidade dessas amostras de inibirem a ECA.

CONCLUSÃO

Novas descobertas científicas revelam que há benefícios para a saúde à ingestão diária e moderada de vinho podendo promover a saúde e prevenir o risco de incidência de doenças do coração, certos tipos de câncer e redução da pressão arterial.

Sendo assim, o presente trabalho contribui com estes estudos científicos já que os resultados obtidos apontam uma contribuição dos compostos fenólicos presentes em vinhos do Planalto Catarinense, especialmente flavanóis e flavonóis, na inibição da ECA. Posto isso sugere-se uma possível associação entre o consumo moderado de compostos fenólicos de vinhos e a diminuição da pressão sanguínea. Destaca-se a correlação positiva significativa observada entre a capacidade de inibição da ECA e o conteúdo de epicatequina ($r = 0,51$) e quercetina ($r = 0,54$) digeridos no processo de digestão gastrointestinal *in vitro*.

Cabe ressaltar, que estudos *in vivo* devem ser realizados a fim de comprovar os resultados obtidos neste estudo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, ao IFSC campus São Miguel do Oeste pelo espaço para realizar as análises, e a Epagri pelas amostras de vinho que foram utilizadas para o desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS

1. Falcão, L. D., De Revel, G., Rosier, J.P., & Bordignon-Luiz, M. T. (2008). Aroma impact components of Brazilian Cabernet Sauvignon wines using detection frequency analysis (GC – olfactometry), *Food Chemistry*, 107, 497–505. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.069>
2. Gris, E.F. et al. Proanthocyanidin profile and antioxidant capacity of Brazilian *Vitis vinifera* red wines. *Food Chemistry*, 126(1), 213–220, 2011a.
3. Gris, E. F., et al. Stilbenes and Tyrosol as Target Compounds in the Assessment of Antioxidant and Hypolipidemic Activity of *Vitis vinifera* Red Wines from Southern Brazil, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 7954–7961, 2011b.
4. Gris, E. F. et al. Phenolic profile and effect of regular consumption of Brazilian red wines on in vivo antioxidant activity. *Journal of Food Composition and Analysis*, 31(1), 31–40, 2013.
5. Figueiredo, E. A., et al. Antioxidant and antihypertensive effects of a chemically defined fraction of Syrah red wine on spontaneously hypertensive rats. *Nutrients*, v. 9, p. 574-589, 2017.
6. Cheyrier, V. Polyphenols in foods are more complex than often thought. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 81, p. 223-229, 2005.
7. Padilla, E. et al. Relationship between vasodilation capacity and phenolic content of Spanish wines. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 517, p. 84-91, 2005.
8. Grosso, G. et al. Dietary polyphenols are inversely associated with metabolic syndrome in Polish adults of the hapiee study. *Eur. J. Nutr.*, 2016.
9. Covas, M.I. et al. Total polyphenol excretion and blood pressure in subjects at high cardiovascular risk. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, v. 21, p. 323-331, 2011.
10. Pandey, K.B.; Rizvi, S.I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, v. 2, p. 270-278, 2009.
11. Miranda, A.M.; Steluti, J.; Fisberg, R.M.; Marchioni, D.M. Association between polyphenol intake and hypertension in adults and older adults: A population-based study in Brazil. *PLoS ONE*, v. 11, e0165791, 2016.
12. Medina-Rejon, A. et al. Total polyphenol excretion and blood pressure in subjects at high cardiovascular risk. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, v. 21, p. 323-331, 2011.
13. D'Agostino R. B. et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation*, v. 117, p. 743-753, 2008.
14. Perez-Vizcaino et al. Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin. *Pharmacological Reports*, v. 61, p. 67-75, 2009.

15. Al Shukor, N. et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitory effects by plant phenolic compounds: A study of structure activity relationships. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 61 (48), p. 11832-11839, 2013.
16. Guerrero, L. et al. Inhibition of angiotensin-converting enzyme activity by flavonoids: Structure-Activity Relationship Studies. *Plos One*. p. 1-11. 2012.
17. Carey, R. M. The intrarenal renin-angiotensin system in hypertension. *Advances in Chronic Kidney Disease*, v. 22(3), p. 204-210, 2015.
18. Velez, J. C. Q. The importance of the intrarenal renine-angiotensin system. *Nature Clinical Practice Nephrology*, v. 5(2), p. 89-100, 2009.
19. Reddy, K. S., Katan, M. B. Diet, nutrition and the prevention of hypertension and cardiovascular diseases. *Public Health Nutrition*, v. 7(1a), 167-186, 2004.
20. Botden, I. P. G. et al. Red wine polyphenols do not lower peripheral or central blood pressure in high normal blood pressure and hypertension. *American Journal of Hypertension*, v. 25 (6), p. 718–723, 2012.
21. Chiva-Blanch, G. Dealcoholized red wine decreases systolic and diastolic blood pressure and increases plasma nitric oxide. *Circulation Research*, v. 111(8), p. 1065–1068, 2012.
22. Dohadwala, M. M. et al. Effects of Concord grape juice on ambulatory blood pressure in prehypertension and stage 1 hypertension. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 92(5), p. 1052–1059, 2010.
23. Burin, V. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of *Vitis vinifera* and *Vitis labrusca* grapes: Evaluation of different extraction methods. *Microchemical Journal*, p. 156- 157, 2015.
24. Fernández, Katherina; Labra, Javiera. Simulated digestion of proanthocyanidins in grape skin and seed extracts and the effects of digestion on the angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity. *Food Chemistry*. Concepción, p. 197-198. fev. 2013.
25. Eriz, G., Sanhueza, V., Roeckel, M., Fernandez, K. Inhibition of the angiotensin-converting enzyme by grape seed and skin proanthocyanidins extracted from *Vitis vinifera* L. cv. Pais. *LWT – Food Science and Technology*, v. 44, p. 860–865, 2011.
26. Jang, M.; Cai, L.; Udeani, G. O.; Slowing, K. V.; Thomas, C. F.; Beecher, C. W. W.; Fong, H. H. S.; Farnsworth, N. R.; Douglas-Kinhorn, A.; Metha, R. G.; Moon, R. C.; Pezzuto, J. M. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Sci.*, v. 257, p.218- 220, 1997.
27. Kanner, L.; Frankel, E.; Granit, R.; German, B.; Kinsella, J. E. Natural antioxidants in grapes and wines. *J. Agric. Food Chem.*, v.42, p. 64-69, 1994.
28. Vaccari, Niucéa Fatima de Souza; Soccol, Marcilene Camila Heidmann; IDE, Gilberto Massashi. Compostos fenólicos em vinhos e seus efeitos antioxidantes na prevenção de

- doenças. Revista de Ciências Agroveterinárias, Lages, v. 8, n. 1, p.71-83, abr. 2009.
- 29.Wenzel, K.; Dittrich, H. H.; Heimfarth, M. Die zusammensetzung der 252 B.Ceppa, Curitiba, v. 22, n. 2, jul./dez. 2004 anthocyane in den beeren verschiedener rebsorten. Vitis, v. 26, p. 65-78, 1987.
- 30.Gris, Eliana Fortes. *Perfil fenólico e atividades antioxidante e hipolipemiante de vinhos de variedades Vitis vinifera cultivadas em São Joaquim - SC - Brasil*. 179 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.
- 31.Moreno-Arribas, M. V.; Polo, M. C. Wine Chemistry and Biochemistry. Springer Science, New York, USA, 2009.
- 32.Souza, Fábio de. Determinação de compostos fenólicos em vinhos e caracterização de vinhos elaborados na região do vale do São Francisco Pernambuco. 2010. Disponível em: <<https://repositorio.ufba.br/ri/handle/ri/10675>>. Acesso em: 15 nov. 2019.
- 33.Daudt, C. E.; Mutti, L. S. M.; Kerstein,É. Possibilidades de produção de Vitis vinifera em Uruguaiana e vizinhanças.Ciência Rural, Santa Maria, v. 3, n. 1-4, p. 163-163, 1973.
- 34.Motta, F. S. Disponibilidade climática para maturação da uva destinada a produção de vinhos finos nas regiões da Serra do Nordeste e Campanha do Estado do Rio Grande do Sul.Revista Brasileira de Agrociência, Pelotas v. 9, n. 3, p. 297-299, 2003.
- 35.Ribéreau-Gayon, P.; Dubourdieu, D.; Donèche, B.; Lonvaud, A. Handbook of Enology– vol. 1: The Microbiology of Wine and Vinifications. Wiley & Sons, West Sussex, UK, 2006
- 36.Cadahía, E.; Simón, B. F.; Sanz, M.; Poveda, P. & Colio, J. Chemical and chromatic characteristics of Tempranillo, Cabernet Sauvignon and Merlot wines from DO Navarra aged in Spanish and French oak barrels. Food Chemistry, 639-649, 2009.
- 37.Arcari, S. G. *Caracterização química, perfil sensorial e capacidade antioxidante de vinhos varietais Merlot (Vitis vinifera l.) produzidos em diferentes regiões brasileiras*. 2016. 228 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2016. Disponível em: <repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/325497/1/Arcari_StefanyGrutzmann_D.pdf> . Acesso em: 25 mai. 2019.
- 38.Marcon, Marcos. Vinho e saúde: entenda o polifenol, resveratrol e suas vantagens. 2017. Disponível em: <<https://www.vemdauva.com.br/vinho-e-saude-polifenol-e-resveratrol/>>. Acesso em: 15 nov. 2019.
- 39.Bertagnolli, Silvana Maria Michelin et al. Influência da maceração carbônica e da irradiação ultravioleta nos níveis de trans-resveratrol em vinhos de uva cabernet sauvignon. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, Santa Maria, v. 43, n. 1, p.1-7, jan. 2007.

40. Rodrigues, João. ácido fenólico - molécula da semana. 2013. Disponível em: <<https://www.fcencias.com/2013/03/14/molecula-da-semana-acido-cafeico/>>. Acesso em: 05 dez. 2019.)
41. Soares, Sergio Eduardo. Ácidos fenólicos como antioxidantes. 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732002000100008>. Acesso em: 05 dez. 2019.
42. Lima, Nayla E. Ferreira. Perfil Fenólico e Atividade Antioxidante de Vinhos Goethe - Caracterização e Evolução Durante o Armazenamento em Garrafa. 2012. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/96118/307716.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 05 dez. 2019.
43. Leite, Patrícia. Ácido Ferúlico – O Que é, Para Que Serve e Como Funciona. 2016. Disponível em: <<https://www.mundoboaforma.com.br/acido-ferulico-o-que-e-para-que-serve-e-como-funciona/>>. Acesso em: 05 dez. 2019.
44. Ribéreau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubourdieu, D. Handbook of Enology – vol. 2: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments. Wiley & Sons, West Sussex, UK, 2006b.
45. Silva, Tacila Mendes da. Caracterização Fenólica e Capacidade Antioxidante de Vinhos Tintos do Hemisfério Sul. 2015. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/15685/1/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20final%20Tacila.pdf>>. Acesso em: 05 dez. 2019.
46. Monagas, M.; Bartolomé, B.; Gómez-Cordovés, C. Effect of the modifier (Graciano vs. Cabernet Sauvignon) on blends of Tempranillo wine during ageing in the bottle. I. Anthocyanins, pyranoanthocyanins and non-anthocyanin phenolics. LWT – Food Science and Technology, v. 39, p. 1133-1142, 2006.
47. Flanzy, C. Enología: Fundamentos Científicos Y Tecnológicos. Madrid, Spain, 2000.
48. Waterhouse, A. L. Wine Phenolics. In: Annals New York Academy of Sciences. New York Academy of Sciences, New York, USA, 2002.
49. He, F.; Liang, N.; Mu, L.; Pan, Q.H.; Wang, J.; Reeves, M.J.; Duan, C.Q. Anthocyanins and Their Variation in Red Wines II. Anthocyanin Derived Pigments and Their Color Evolution. Molecules, v. 17, p. 1483-1519, 2012.
50. Konishi, Y.; Zhao, Z.; Shimizu, M.; *J. Agric. Food Chem.* 2006, 54, 7539.
51. Adam, A.; Crespy, V.; Levrat-Verny, M. A.; Leenhardt, F.; Leuillet, M.; Demign'e, C.; Remesy, C.; *J. Nutr.* 2002, 132, 1962.
52. Clifford, M. N.; *J. Sci. Food Agric.* 2000; 80, 1033.
53. Lima, Nayla Elaine Ferreira. *Influência das condições de prensagem do mosto e da adição de glutatona em vinhos brancos. Síntese, identificação, elucidação de estrutura de adultos*

formados em reações de oxidação de vinhos brancos. 2016. 128 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

54.Mamede, Maria Eugênia de Oliveira; PASTORE, Gláucia Maria. Compostos fenólicos do vinho: estrutura e ação antioxidante. *B.ceppa*, Curitiba, v. 22, n. 2, p.233-252, jul/dez. 2004.

55.Celi, Renata. Etanol: fórmula. 2019. Disponível em: <<https://www.stoodi.com.br/blog/2019/04/03/etanol-formula/>>. Acesso em: 05 dez. 2019.

56.Serafini, M.; Maiani, G.; Luzzi, A. F.1997. Effect of ethanol on red wine tannin/protein (BSA) interactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45: 3148-3151.

57.Brownson, D.M.; Nicolas, G.A.; Fuqua, B. K.; Dharmawardhane, Su, F.; Mabry, T. J. Flavonoid effects relevant to cancer. *J. Nutr.*, v. 132, p.3482S-3489S, 2002. *Cienc. Farm.*, Mar 2007, vol.43, no.1, p.71-77. ISSN 1516-9332

58.Luceri, C.; Caderni, G.; Sanna, A.; Dolara, P. Red wine and black tea polyphenols modulate the expression of cyclooxygenase-2, inducible nitric oxide synthase and glutathione-related enzymes in azoxymethane-induced F344 rat colon tumors. *J. Nutr.*, v. 132, p. 1376-1379, 2002.

59.Rifici, V.A.; Schneider, S. H.; Khachadurian, A. K. Lipoprotein oxidation mediated by J774 murine macrophages is inhibited by individual red wine B.Ceppa, Curitiba, v. 22, n. 2, jul./dez. 2004 251 polyphenols but not by ethanol. *J. Nutr.*, v. 132, p. 2532-2537, 2002.

60.Archela, Edson; Dall'Antonia, Luiz Henrique. Determinação de Compostos Fenólicos em Vinho: Uma revisão. Londrina. 2013. p. 193 - 210.

61.Ribeiro, Wellington; muscará, Marcelo Nicolás. Características farmacocinéticas de antagonistas de cálcio, inibidores da ECA e antagonistas de angiotensina II em humanos. *Rev Bras Hipertens*, São Paulo, 2001. Disponível em : <https://www.researchgate.net/profile/Marcelo_Muscara/publication/253123725_Caracteristicas_farmacocineticas_de_antagonistas_de_calcio_inibidores_da_ECA_e_antagonistas_de_angiotensina_II_em_humanos/links/55e9ce8c08aeb65162651ca4/Caracteristicas-farmacocineticas-de-antagonistas-de-calcio-inibidores-da-ECA-e-antagonistas-de-angiotensina-II-em-humanos.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2019.

ANEXO I

Graphical Abstract

Insira aqui a imagem do Graphical Abstract (textos dentro da imagem devem ser em inglês)

Insira aqui o texto descritivo do Graphical Abstract (de 2 a 3 linhas, em inglês)

A REAÇÃO DE METÁTESE DE OLEFINAS: REORGANIZAÇÃO E CICLIZAÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS título: todas as letras maiúsculas

José A. Benício^a, Maria C. Cavalcante^b e João D. de Almeida^{a,*} marcar com asterisco o autor que submeteu o artigo

^aAqui vai o endereço. Lembre-se de que a menor unidade usada deve ser o departamento (não citar laboratório, grupo, programa de pós-graduação etc), depois instituto (se houver), depois universidade. Sempre tudo por extenso. Exemplo: Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá, 87020-900 Maringá – PR, Brasil

^bCaso haja autores de outro instituto, separar os autores por endereço, como foi feito aqui. Nesse caso, aqui entra o endereço de Maria C. Cavalcante

-----marque uma alternativa, não apague o texto em azul-----

() Manuscrito com material suplementar

() Manuscrito sem material suplementar

*e-mail: insira aqui o email do autor que submeteu o artigo

THE OLEFIN METATHESIS REACTION: REORGANIZATION AND CICLIZATION OF ORGANIC COMPOUNDS título em inglês do seu manuscrito, com todas as letras maiúsculas e sem negrito

Aqui deve ser escrito o abstract do seu artigo, não se esqueça de que ele deve apresentar no máximo 200 palavras.

Keywords: keyword1; keyword2; keyword3. insira entre 3 e 5 keywords

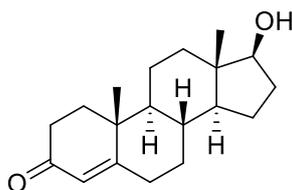
INTRODUÇÃO

Os títulos da seção são escritos com todas as letras maiúsculas e em negrito. Deve haver espaçamento antes e depois do título da seção.

Subtítulo1 **subtítulo– Apenas a 1ª letra maiúscula, em negrito. Deve haver espaçamento antes e depois do subtítulo**

Aqui entra o seu texto. Caso haja alguma citação a ser feita, ela deve seguir este padrão.¹ Caso queira citar um intervalo de três ou mais referências em sequência, use dessa forma.²⁻⁴ Quando forem apenas duas ou não estiverem em sequência, usar a vírgula.^{1,3,5} Repare que todas elas aparecem logo após a pontuação e não apresentam espaços. A Química Nova não publica notas de rodapé. Quaisquer notas do autor devem ser incluídas na lista de referências e, no texto, devem seguir o mesmo padrão das citações, mantendo inclusive a sequência numérica. Esta é uma nota do autor, que estará na posição 6 da lista de referências e não no rodapé da página.⁶

Como pode perceber, os parágrafos não apresentam tabulações. Favor manter esse padrão durante todo o texto. Caso queira inserir uma figura, seguir o padrão como na Figura 1.



Testosterona (C₁₉H₂₈O₂)

Figura 1. A descrição da figura deve ter esse formato. Em itálico e sem ponto final

Todas as figuras devem ser incluídas no texto, logo após serem citadas pela primeira vez. No caso de estruturas químicas, utilize o estilo ACS, disponível para diversos editores de moléculas e descrito em detalhes aqui: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bk-2006-STYG.ch017>

Tabelas também são indicadas como mostra a Tabela 1.

Tabela 1. Siga esse padrão. O título em negrito e a descrição do título sem negrito ou itálico.

Não colocar ponto final

Ao final do rodapé das tabelas: deve ter ponto final.

Deve haver espaço entre número e unidade (por exemplo, 1 h) e as unidades devem ser abreviadas.

Termos ou expressões em inglês ou em latim – em itálico

Subtítulo2

Sub-subtítulo *Sub-subtítulo de seção só a 1^a em maiúscula e em itálico. Deve haver espaçamento apenas antes do sub-subtítulo, não depois.*

As figuras (incluindo gráficos, esquemas, etc) deverão ser em número máximo de 7 figuras e ter qualidade gráfica adequada (usar somente fundo branco). Para número maior, utilizar o Material Suplementar. A resolução mínima é de 300 dpi. No caso particular de esquemas contendo estruturas químicas, estas deverão ter sempre a mesma dimensão, para que possam ser reduzidas uniformemente, além de boa qualidade gráfica

Outro subtítulo do trabalho

Outro sub-subtítulo do trabalho

PARTE EXPERIMENTAL

Primeiro subtítulo da parte experimental

Primeiro sub-subtítulo da parte experimental

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Primeiro subtítulo dos resultados e discussão

Primeiro sub-subtítulo dos resultados e discussão

CONCLUSÃO

MATERIAL SUPLEMENTAR

Quando houver material suplementar, ele deve ser indicado aqui, com a descrição do material, similar a: Algumas imagens dos sistemas utilizados neste trabalho estão disponíveis em <http://quimicanova.sbq.org.br>, na forma de arquivo PDF, com acesso livre.

AGRADECIMENTOS

Os agradecimentos vão aqui. Caso queira agradecer a uma pessoa, apenas o último sobrenome deve ser por extenso, por exemplo A. B. Cardoso.

REFERÊNCIAS

Artigo:

1. Tavares, L. C.; *Quim. Nova* **2004**, 27, 631.

Artigo de uma revista de difícil acesso – deve-se citar o número de Chemical Abstract

2. Provstyanoi, M. V.; Logachev, E. V.; Kochergin, P. M.; Beilis, Y. I.; *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved.; Khim. Khim. Tekhnol.* **1976**, 19, 708. (CA 85:78051s).

Artigo com número de DOI, mas sem a referência completa:

3. Vidotti, M.; Silva, M. R.; Salvador, R. P.; de Torresi, S. I. C.; Dall'Antonia, L. H.; *Electrochimica Acta* (2007), doi:10.1016/j.electacta.2007.11.029.

Patentes - na medida do possível o número do Chemical Abstracts deve ser informado entre parênteses:

4. Hashiba, I.; Ando, Y.; Kawakami, I.; Sakota, R.; Nagano, K.; Mori, T.; *Jpn. Kokai Tokkyo Koho* 79 73,771 **1979**. (CA 91:P193174v)

5. Kadin, S.B.; *US pat.* 4,730,004 **1988**. (CA 110:P23729y)

6. Eberlin, M. N.; Mendes, M. A.; Sparrapan, R.; Kotiaho, T. *Br PI* 9.604.468-3, **1999**.

Livro com editor(es):

7. Regitz, M. Em *Multiple Bonds and Low Coordination in Phosphorus Chemistry*; Regitz, M.; Scherer, O. J., eds.; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 1990, cap. 2.

Livro sem editor(es):

8. Cotton, F. A.; Wilkinson, G.; *Advanced Inorganic Chemistry*, 5th ed., Wiley: New York, 1988.

Programas de computação (Softwares):

9. Sheldrick, G. M.; *SHELXL-93; Program for Crystal Structure Refinement*; Universidade de Göttingen, Alemanha, 1993.

Teses e dissertações:

10. Velandia, J. R.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil, 1997.

Material apresentado em Congressos:

11. Ferreira, A. B; Brito, S. L.; *Resumos da 20a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, Poços de Caldas, Brasil, 1998.

Páginas de Internet:

12. <http://www.s bq.org.br/jbcs>, acessada em Junho 2001.

Material não publicado:

Para material aceito para publicação: Magalhães, U. H.; *J. Braz. Chem. Soc.*, no prelo.

Para material submetido mas ainda não aceito: Magalhães, U. H.; *J. Braz. Chem. Soc.*, submetido. Para trabalho não publicado ou comunicação pessoal: Magalhães, U. H.; trabalho não publicado ou Magalhães, U. H., comunicação pessoal. Os resultados não publicados só poderão ser citados com a permissão explícita das pessoas envolvidas na sua obtenção.

P.S.: os títulos dos periódicos devem ser abreviados. Antes da submissão do trabalho, por favor, confira se as abreviaturas estão corretas no website: <http://cassi.cas.org>. Caso a

abreviatura autorizada de uma determinada revista não puder ser localizada com a ferramenta CASSI, deve-se citar o título completo.

Se a referência for livro, lembre-se de que é necessário indicar editora, cidade e ano de publicação.

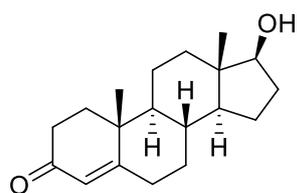
MATERIAL SUPLEMENTAR

Caso seu manuscrito contenha material suplementar, escreva aqui, após as referências, o texto e também insira as figuras, tabelas e esquemas. Não esqueça que as legendas das figuras e títulos das tabelas se diferenciam das do texto principal por conter a letra S. Por exemplo:

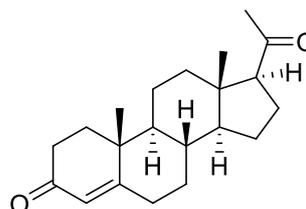
Tabela 1S. Siga esse padrão. O título em negrito e a descrição do título sem negrito ou itálico. Não colocar ponto final

Ao final do rodapé das tabelas: deve ter ponto final.

Exemplo de figura:



Testosterona (C₁₉H₂₈O₂)



Progesterona (C₂₁H₃₀O₂)

Figura 1S. A descrição da figura deve ter esse formato. Em itálico e sem ponto final

Atenção: As figuras e tabelas devem ser inseridas no texto, como indicado neste template, mas também devem ser inseridos os arquivos originais separadamente na plataforma ScholarOne. Todas as figuras devem ter alta resolução. Figuras em baixa resolução causam atrasos na publicação de seu trabalho. Para mais detalhes, consultar as “Instruções para Autores” em nosso website.